Die Biosynthese von Aneurin in der höhern Pflanze

Der B_1-Gehalt von Melandrium album unter verschiedenen Bedingungen

Inaugural-Dissertation

der philosophischen Fakultät II der
Universität Bern
zur Erlangung der Doktorwürde

Vorgelegt von

HANS HURNI

von Ferenbalm (Bern)

Bern — Buchdruckerei H. Möschler — 1944

Separatabdruck aus: „Zeitschrift für Vitaminforschung“
Band 15 — Heft 3 — 1944
Verlag Hans Huber, Bern

Die Biosynthese von Aneurin in der höhern Pflanze

Der B_1-Gehalt von Melandrium album unter verschiedenen Bedingungen

Inaugural-Dissertation

der philosophischen Fakultät II der
Universität Bern
zur Erlangung der Doktorwürde

Vorgelegt von

HANS HURNI

von Ferenbalm (Bern)

Bern — Buchdruckerei H. Möschler — 1944

Von der philosophischen Fakultät II auf Antrag des Herrn Prof. Dr. W. H. Schopfer angenommen.

Bern, den 28. Juni 1944.

Der Dekan:
Prof. H. Huttenlocher.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Aus dem Botanischen Institut und Garten der Universität Bern.
Direktor: Prof. Dr. W. H. Schopfer.

Die Biosynthese von Aneurin in der höhern Pflanze. Der B_1-Gehalt von Melandrium album unter verschiedenen Bedingungen.

Von H. Hurni.

Eingegangen am 2. August 1944.

Einleitung und Fragestellung

Eine Pflanze, die alle zu ihrer Entwicklung nötigen Wirkstoffe selbst aufzubauen vermag, wird als auxo-autotroph bezeichnet (Schopfer). Sind aber die Synthesefähigkeiten, die zum Aufbau dieser Wirkstoffe führen, verloren gegangen, so wird der Organismus auxo-heterotroph. Der oder die Wirkstoffe, die nicht mehr synthetisiert werden, müssen dem Substrat, auf dem die Pflanze wächst, entnommen werden können. Zu dieser Gruppe von Organismen gehören verschiedene niedere Pflanzen, einige Orchideen, wie auch Wurzeln und andere chlorphyllose Teile höherer, grüner Pflanzen.

Die Auxo-Heterotrophie kann in allen Stärkegraden auftreten. Die Synthesefähigkeit kann für mehrere lebensnotwendige Wirkstoffe verloren sein. Der Verlust kann aber auch nur einen einzigen Wirkstoff oder sogar nur Teilsynthesen eines einzelnen Stoffes betreffen. In letzterem Falle spricht man von einer partiellen Auxo-Heterotrophie.

Wenn man annimmt, dass B_1 als Wirkgruppe der Carboxylase in den Kohlehydratstoffwechsel eingreift, muss der Organismus das ganze Aneurin-Molekül zur Verfügung haben. Wie Schopfer und Müller gezeigt haben, genügt bei *Mucor Ramanianus* eine Zugabe von Thiazol, der einen B_1-Komponente, zur Kultur zu dessen Entwicklung. Pyrimidin kann also selbst synthetisiert werden. *Rhodotorula rubra* dagegen verlangt Pyrimidin, da nur Thiazol selbst aufgebaut werden kann. *Phycomyces Blakesleeanus* reagiert nur auf das ganze Aneurin-Molekül oder auf beide Komponenten in äquimolaren Mengen. Er besitzt also noch die Fähigkeit, aus Thiazol und Pyrimidin Vitamin B_1 aufzubauen. Bonner zeigte, dass solche partielle Verluste der Synthesefähigkeit auch bei *Tomaten-* und *Erbsenwurzeln* vorkommen. *Tomatenwurzeln* synthetisieren selbst Pyrimidin, verlangen zu ihrer Kultur aber noch Thiazol, das in der Natur von den Blättern geliefert

wird. *Erbsenwurzeln* verlangen in Reinkultur beide Komponenten und bauen daraus B_1 auf. Die Kultur gelingt aber auch, wenn statt Thiazol dessen Vorstufen, Thioformamid und Chloracetopropylalkohol angeboten wird. Die *Erbsenwurzel* besitzt also nicht nur die Fähigkeit, Aneurin aus dessen Komponenten zu synthetisieren, sondern sie kann auch die Vorstufen des Thiazols vereinigen. Auffallend ist, dass scheinbar in vivo der gleiche Synthese-Weg beschritten werden kann, auf dem auch der Chemiker zum B_1 gelangt.

Die Erhöhung des Aneurin-Gehaltes einer auxo-autotrophen Pflanze kann experimentell theoretisch auf zwei Wegen angestrebt werden.

1. Der direkte Weg: Der Pflanze wird mit dem Giesswasser B_1 zugeführt. Dieses kann von der Pflanze zusammen mit den mineralischen Stoffen aufgenommen werden. Synthetisierte die Pflanze aber sonst genügend Vitamin B_1, so wird der erhöhte Aneurin-Gehalt keinen Einfluss auf den Stoffwechsel ausüben. Durch Imbibition mit B_1-haltigem Wasser könnte eine *B_1-Speicherung ohne Wachstumseffekte* zustande kommen. War aber die Aneurin-Synthese kaum genügend und wirkte das zur Verfügung stehende B_1 im Sinne des Minimumgesetzes als begrenzender Faktor, so muss eine zusätzliche B_1-Menge *fördernd auf den Stoffwechsel* und dadurch auf das Wachstum einwirken. Diese Frage wurde 1938 von Bonner und Greene aufgegriffen, die mit B_1-Gaben im Giesswasser eine Förderung des Wachstums bei *Tomate, Senf, Lattich, Cosmos* und *Klatschrose* erreichten. 1940 und 1941 wurden die Versuche von weitern Forschern (Arnon, Hamner, Gorham, Minnum, Swartz) mit den gleichen Pflanzen und einigen neuen Arten *(Lemna, Rettich, Blumenkohl, Kohl, Dahlia, Zinnia, Chrysanthemum* und *Tagetes)* wiederholt. Die Resultate von Bonner und Greene konnten nicht durchwegs bestätigt werden, denn der erwartete Einfluss der B_1-Düngung auf das Wachstum konnte nicht immer gefunden werden. 1943 führte Neipp den gleichen Versuch an *Valeriana offic.* durch und fand eine schwache Förderung des Wachstums. Im gleichen Jahr untersuchten Mirimanoff, Schmotkin, Schüpbach und Moudon den Einfluss der B_1-Düngung auf *Schlafmohn.* In einer Versuchsserie erzielten sie eine Wachstumssteigerung. Morphin- und Oel-Gehalt blieben aber unverändert.

2. Der indirekte Weg: Indem durch mineralische Düngung der allgemeine Stoffwechsel angeregt wird, kann vielleicht die B_1-Synthese in der Pflanze ebenfalls gefördert werden, so dass nicht nur das Wachstum, sondern auch der Aneurin-Gehalt erhöht würde.

Diese Frage ist besonders interessant, da nach Einführung der chemischen Düngung durch Liebig immer wieder Stimmen laut geworden sind, die behaupteten, die mit künstlichem Dünger getriebenen Pflanzen seien für die menschliche Ernährung weniger wertvoll.

Trotz der ungeheuren Zahl von Vitaminarbeiten der letzten 20 Jahre findet man relativ wenige Autoren, die dieses Gebiet bearbeitet haben. Bevor Aenderungen im B_1-Gehalt als Folge verschiedener Düngung festgestellt werden können, muss zuerst die normale Verteilung des Aneurins in den verschiedenen Pflanzenteilen während dem Wachstum untersucht werden.

Bisherige Untersuchungen über den Aneurin-Stoffwechsel

1928 bemerkte Heller, dass das Vitamin B_1 während der Keimung verschwindet, dass es aber später wieder gebildet wird. Im gleichen Jahr fand Kucera ebenfalls ein Verschwinden des Vitamins B_1 während der Keimung, wobei die Abnahme je nach Pflanzenart verschieden schnell vor sich ging. 1929 untersuchte Hlavaty die gleiche Frage bei keimenden *Erbsen* und *Wicken*. Er stellte fest, dass das Vitamin während der Keimung nie ganz verschwindet, und dass es in der jungen Pflanze wieder vermehrt gebildet wird. Sonnenlicht beschleunige die Vitamin B_1-Abnahme während der Keimung. 1932 konnten Black Kifer und Munzell bei *Spinatblättern* weder in Bezug auf Farbe noch Form der Blätter einen Zusammenhang mit dem Vitamin B_1-Gehalt finden. Auch bei verschiedenen *Spinat*-Varietäten konnten sie keine Unterschiede im Aneurin-Gehalt feststellen. Sun bemerkte 1933, dass die Nebenwurzeln des *Ginseng* weniger Vitamin B_1 enthalten, als die Hauptwurzel. 1939 untersuchte Rytz jun. den Aneurin-Gehalt der *Erbse* während ihrer Entwicklung. Er benützte zum erstenmal zu diesem Zwecke den *Phycomyces-Wachstumtest* von Schopfer. Rytz fand, dass im Verlaufe der Keimung die Kotyledonen immer B_1-ärmer werden, während der Aneurin-Gehalt des Keimlings ständig zunimmt, um nach 8 bis 10 Tagen ein auffallend hohes Maximum zu erreichen, welches bald wieder auf einen ziemlich konstant bleibenden Gehalt absinkt. Die aneurinreichsten Organe sind immer die Sprosspitze und die jungen Blätter, ferner auch Blütenknospen und Fruchtknoten. Bonner untersuchte 1942 den Aneurin-Transport in der *Tomatenpflanze* und fand, dass der Vitamin B_1-Gehalt von der Spitze bis zur Wurzel regelmässig abnimmt, dass demnach eine Leitung des Aneurins von oben nach unten stattfinden muss. Zu den gleichen Ergebnissen kamen auch 1942 Burkholder und Snow mit ihren

Untersuchungen an *Zuckerrohr* und *Eiche*. Wie schon Bonner, verwendeten auch sie zur Aneurin-Bestimmung den *Phycomyces-Wachstumtest*. Die Leitung des Aneurins bewiesen sie durch Ringelungsversuche. Nach 4 bis 6 Wochen war bereits ein deutlicher Unterschied im Aneurin-Gehalt der Rinden unter und über dem Einschnitt festzustellen, indem über dem Einschnitt mehr B_1 zu finden war. Nach 4 Monaten war die Speicherung über dem Einschnitt noch deutlicher, während unter dem Ring sozusagen jede Aneurin-Aktivität verschwunden war.

Bisherige Untersuchungen über den Einfluss der Düngung auf den Aneurin-Gehalt

Schon 1924 bis 1926 wurde dieses Problem von McCarrison untersucht. Er fand, dass der B_1-Gehalt von *Weizen* vom Boden, auf dem er gewachsen war, abhängig sei. Auf schlechtem Boden enthalte der *Weizen* wenig Vitamine. Durch Stallmist-Düngung erzielte er eine Erhöhung des Vitamin B_1-Gehaltes von 15 % gegenüber chemisch gedüngtem *Weizen*. 1927 fand Hunt, dass mit Phosphorsäure gedüngter *Weizen* den höchsten B_1-Gehalt aufweist, gleichgültig ob zur Düngung gleichzeitig noch Kaliumchlorid oder Natriumnitrat einzeln oder zusammen mitverwendet wurden. Im Gegensatz zu den bisherigen Untersuchungen stellte Rowland 1929 fest, dass der Vitamin-Gehalt von Pflanzen durch Düngung gesenkt werde, wobei anorganischer Dünger den Gehalt stärker herabdrücke als organischer Dünger. 1930 bestätigten Rowland und Wilkinson diese Versuche noch einmal. Harris dagegen fand 1934, dass keine Bodenbehandlung und keine Düngungsweise den Vitamin B_1-Gehalt der darauf wachsenden Pflanzen beeinflussen können. 1936 fanden Scheunert und Schieblich, dass weder Volldüngung mit K, N und P, noch Stallmist, oder Volldüngung und Stallmist einen Einfluss auf den Vitamin B_1-Gehalt von *Weizen* haben. Diese Versuche bestätigten Scheunert und Wagner 1939, indem sie mit *Gerste* zu den gleichen Ergebnissen kamen. Auch mit einer Einzeldüngung mit K, N und P konnten sie in keiner Weise auf den Vitamin B_1-Gehalt einwirken. 1940 untersuchten Burkholder und McVeigh verschiedene *Mais-Hybriden* auf ihren B_1-Gehalt mit dem *Phycomyces-Wachstumtest*. Mit Stickstoffdüngung fanden sie eine deutliche Förderung der Vitamin B_1-Bildung und zwar in der Weise, dass der B_1-Gehalt der Dünger-Konzentration proportional war. Auch mit Phosphorsäure-Düngung erhielten sie eine Einwirkung auf den Aneurin-Gehalt, allerdings eine negative und der Dünger-Konzentration nicht proportionale. Zugleich stellten sie regelmäs-

sige Unterschiede im B_1-Gehalte der verschiedenen Varietäten fest und eine Abnahme des Vitamin B_1-Gehaltes mit zunehmendem Alter der untersuchten Pflanzenteile. Kelly, Dietrich und Porter untersuchten 1940 den Vitamin B_1-Gehalt verschiedener *Bohnensorten* von verschiedenen Standorten mit dem Rattentest. Sie fanden wohl Unterschiede, aber keine Gesetzmässigkeiten, so dass sie zu dem Schlusse kamen, der Standort einer Pflanze beeinflusse deren Vitamin B_1-Gehalt nicht. Im gleichen Jahr fanden Scheunert und Wagner bei Untersuchungen über den Aneurin-Gehalt von *Weizen* und *Roggen* unter andern Ergebnissen auch, dass der B_1-Gehalt von der Art abhängig sei.

Zusammenfassung: Der Stand der Untersuchungen über den Aneurin-Stoffwechsel und dessen Beeinflussung durch Standort und Düngung ist soweit gediehen, dass man sagen kann, dass in den jüngsten Pflanzenteilen am meisten Aneurin gefunden wird, dass eine Leitung des Aneurins von den jüngern Pflanzenteilen von oben nach unten der Wurzel zu anzunehmen ist. Ferner ist der B_1-Gehalt von Art zu Art verschieden. Ueber den Einfluss der Düngung und des Standortes dagegen liegen sich widersprechende Befunde vor.

In der vorliegenden Arbeit sollen zuerst die normale Verteilung des Aneurins in der Pflanze während ihrer Entwicklung und dann der Einfluss des Bodens und der Düngung auf den Aneurin-Gehalt untersucht werden. Als Versuchspflanze wurde *Melandrium album* gewählt, weil diese Pflanze im botanischen Institut der Universität Bern bereits mehrmals nach verschiedenen Richtungen hin auf ihre physiologischen Eigenschaften untersucht worden ist (Schopfer, Blumer, Kocher). Sie ist zudem relativ rasch und leicht kultivierbar und als neutrales Gewächs wird es weder Ernährungsphysiologen noch Gärtnern Anlass zu heftigen Diskussionen geben. Auch kann, da die Pflanze diözisch ist, geprüft werden, ob sich ein Unterschied im B_1-Gehalt der beiden Geschlechter feststellen lässt.

Methodik

Zur Bestimmung des Aneurins wurde der *Phycomyces-Wachstumtest* nach Schopfer verwendet. Der Schimmelpilz *Phycomyces Blakesleeanus* wächst auf synthetischer Nährlösung nur, wenn er Aneurin oder dessen Komponenten, Thiazol und Pyrimidin, erhält, da er in Bezug auf B_1 auxo-heterotroph ist. In suboptimalen Mengen wirken das Vitamin oder dessen Komponenten als begrenzende Faktoren für das Wachstum. Diese Eigenschaft wird zur quantitativen Aneurin-Bestimmung ausgewertet. Schopfer hat ferner gezeigt, dass die Stickstoffquelle, sofern sie dem Pilz in Form von Asparagin angeboten wird, einen begrenzenden Wachstumsfaktor darstellen kann. Keine andere

Stickstoffquelle kann von *Phycomyces* so gut ausgenützt werden, wie Asparagin. Eine 400 %ige Erhöhung der Asparagin-Konzentration bewirkt bei gleichbleibender Vitamin B_1-Menge (1 γ pro Kultur) eine 100 %ige Steigerung des Trockengewichtes des Pilzes in 10 Tagen (von 86 mg auf 160 mg, nach Schopfer). Eine 500 %ige Erhöhung der Ammoniumcitrat-Konzentration vermehrt das Trockengewicht unter sonst gleichen Bedingungen nur um unge-

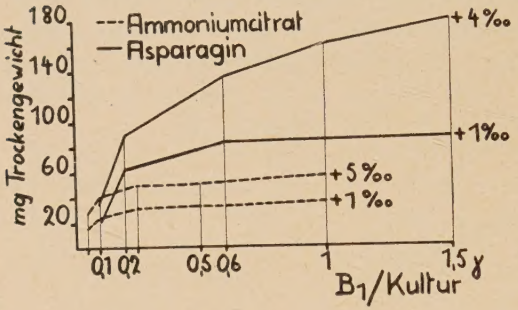

Abb. 1.
Wachstum von *Phycomyces* auf Asparagin und Ammoniumcitrat als N-Quelle bei verschiedenen Dosen Vitamin B_1.

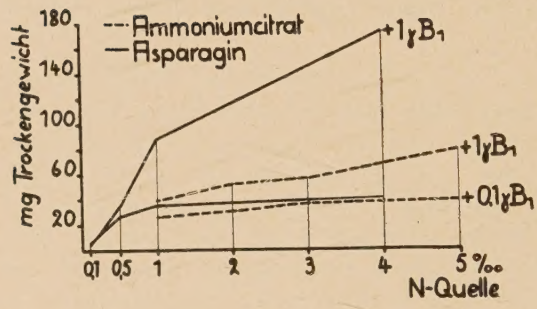

Abb. 2.
Wachstum von *Phycomyces* auf Asparagin und Ammoniumcitrat als N-Quelle bei verschiedener Konzentration derselben.

fähr 42 %, von 38 mg auf 54 mg (Abb. 1 und 2). Wie Versuche gezeigt haben, können andere Stickstoffquellen, wie Ammoniumoxalat, Ammoniumtartrat, Ammoniumacetat, milchsaures Ammonium, bernsteinsaures Ammonium, Glykokoll und Urea Asparagin nicht ersetzen. Eine Mehrzugabe von Stickstoff in Form einer der erwähnten N-Quellen zu Asparagin bewirkt bei suboptimalen B_1-Dosen kein Mehrwachstum. Auf allen diesen N-Quellen und auf Kombinationen von ihnen wächst *Phycomyces* nur bei Zugabe von Aneurin oder Thiazol und Pyrimidin.

Spezielle Untersuchungen ergaben eine gute Uebereinstimmung des *Phycomyces-Wachstumtestes* mit Tiertesten. Der Pilztest ist aber vorzuziehen, da er viel empfindlicher ist, und man deshalb mit viel kleinern Substanzmengen arbeiten kann. Zu den gleichen Ergebnissen in bezug auf die Brauchbarkeit des Pilztestes zur Bestimmung des Aneurins kam nach kritischen Versuchen auch Thren.

Zur Aneurin-Bestimmung in den verschiedenen Pflanzenteilen wurden diese getrocknet, pulverisiert und in solchen Mengen zur synthetischen Nährlösung zugefügt, dass die darin enthaltene Vitamin-Menge unterhalb der optimalen B_1-Grenze lag. Auf diese Weise wird verhindert, dass der durch das Pflanzenpulver zugefügte Stickstoff ein Mehrwachstum auslösen könnte. Eine Zugabe von *Melandrium*-Blattpulver zu synthetischem B_1 bewirkt nur eine Trockengewichtserhöhung, die dem im Blattpulver enthaltenen Aneurin entspricht (Tab. 1). Die Differenzen zwischen gefundenen und errechneten Werten liegen alle innerhalb der Schwankungen des Trockengewichtes zweier Phycomyces-Kulturen unter genau gleichen Bedingungen. Dieser Versuch beweist zugleich auch, dass im *Melandrium*-Blattpulver keine Substanzen enthalten sind, die auf *Phycomyces* hemmend wirken, wie sie zum Beispiel *Picea excelsa* und *Thujopsis* enthalten.

TABELLE 1.

Zugabe von Blattpulver zu Nährlösung mit synthetischem B_1.

1.		2	4	6	8	10 mg Blattpulver
2.		0,0172	0,0344	0,0516	0,0688	0,086 γ B_1
3.	+ 0,2 γ B_1/Kultur	72	75	77,5	74	75,5 mg Trockengew.
4.		71,5	74	75	76,5	79 mg Trockengew.
	Differenz:	+0,5	+1	+2,5	—2,5	—3,5 Durchschnitt —0,4 mg
5.	+ 2 γ B_1/Kultur	91,5	89,5	90,5	90,5	94 mg Trockengew.
6.		92	92	92	92	92 mg Trockengew.
	Differenz:	—0,5	—2,5	—1,5	—1,5	+2 Durchschnitt —0,9 mg

1. Menge des pro Kultur zugefügten Blattpulvers. 2. Aneurin-Menge, die im zugefügten Blattpulver enthalten ist. 3. Phycomyces-Trockengewicht bei Zugabe von 0,2 γ B_1 pro Kultur zum Blattpulver, gemessene Werte. 4. Errechnetes Phycomyces-Trockengewicht aus Gesamt-B_1-Gehalt der Kultur. 5. Phycomyces-Trockengewicht bei Zugabe von 2 γ B_1 pro Kultur zum Blattpulver, gemessene Werte. 6. Errechnetes Phycomyces-Trockengewicht aus Gesamt-B_1-Gehalt der Kultur.

Die Spezifität des Phycomyces-Wachstumtestes

Ursprünglich wurde die Spezifität der Wirksamkeit des Vitamins B_1 nur auf Mensch und Tier bezogen. Da aber das Tier das ganze Aneurin-Molekül verlangt und dessen Substituenten anfänglich nur in bescheidenen Mengen erhältlich waren (im Gegensatz zu den Substituenten von Pyrimidin und Thiazol), blieben die Erkenntnisse über die Konstitutionsspezifität lückenhaft, bis diese

durch die Mikrobiologie ergänzt und vertieft wurden. Als Schlussfolgerung dieser Arbeiten findet man, dass jede Art von Organismen ihre spezifische Spezifität aufweist.

Ein mikrobiologischer Test zur Bestimmung von Vitaminen erlangt nur dann Bedeutung, wenn seine Konstitutionsspezifität für das zu bestimmende Vitamin gross ist. Sind aber auf das Tier auch Vitamin-Substituenten physiologisch wirksam, so ist es von Vorteil, wenn der mikrobiologische Test in seiner Spezifität der des Tieres gleich oder möglichst ähnlich ist. Glücklicherweise trifft dies beim *Phycomyces-Wachstumtest* zu.

1940 prüfte Schulz eine Reihe von Aneurin-Homologen und -Analogen auf ihre antineuritische Wirksamkeit mit dem Taubentest. Die Schlussfolgerung aus seinen Versuchen ist, dass die Vitamin B_1-Wirkung nicht auf einen einzigen Stoff, das 4-Methyl-5-β-hydroxyäthyl-N-(2-methyl-4-amino-pyrimidyl-5-methyl)-thiazol, beschränkt ist, sondern dass eine Anzahl Aneurin-Homologe und -Analoge eine antineuritische Wirksamkeit aufweisen. Schopfer untersuchte die gleiche Frage mit *Phycomyces* (1938—41). Dabei stellte sich heraus, dass *Phycomyces*, im Gegensatz zu andern Mikroorganismen, sich ähnlich wie das Tier verhält in bezug auf die Aneurin-Homologen und -Analogen. Diese Stoffe lassen sich nach ihrer Wirkung in drei Gruppen teilen. Die Aneurin-Verwandten der ersten Gruppe zeigen ungefähr die gleiche Wirksamkeit wie Aneurin. Auffallend ist die antineuritische Aktivität von Aethyl-

TABELLE 2.

	Wirksamkeit auf Taube [1]	Wirksamkeit auf Phycomyces [2]
1. Aneurin	1	1
2. C_2H_5 in 2-Stellung des Pyrimidins, anstelle des CH_3	1,19	1,18
3. $(CH_3)_2CH$ in 2-Stellung des Pyrimidins, anstelle des CH_3	0,31	0
4. CH_3 in 6-Stellung des Pyrimidins, anstelle der 2-Stellung (Isovitamin)	0,0002	0,001
5. $CH_2CH_2CH_2OH$ in 4-Stellung des Thiazols, anstelle des CH_3	0,028	0,036
6. OH in 4-Stellung des Pyrimidins, anstelle des NH_2	0	0
7. $CH_2CH_2CH_2OH$ in 5-Stellung des Thiazols, anstelle CH_2CH_2OH	0	0

[1]) Nach Schulz.
[2]) Nach Schopfer

aneurin (Schopfer, 1938), das sehr wahrscheinlich auch in der Natur vorkommt, die grösser ist, als diejenige des Vitamins B_1 (Methyl-aneurin). Zu der zweiten Gruppe gehören Homologe und Analoge, die auch in sehr grosser Konzentration keine Aneurin-Wirkung mehr aufweisen. Die dritte Gruppe umfasst diejenigen Verbindungen, die in wirksamer Aneurin-Konzentration keine Aktivität zeigen, wohl aber in stark erhöhten Dosen (z. B. Isovitamin). (Tab. 2.)

Ebenfalls können, wie Schopfer zeigte, auch Heterovitamine, bei denen der Pyrimidin-Ring durch einen Pyridin-Ring ersetzt ist, auf *Phycomyces*, wie auch auf das Tier, eine schwache Aneurin-Wirkung ausüben. Wird der Pyrimidin-Ring dagegen durch einen Benzyl-Ring ersetzt, so verliert das Heterovitamin seine antineuritische Wirksamkeit, wie auch seine Wirkung auf *Phycomyces*. Organismen, die nur auf das Thiazol angewiesen sind, sprechen dagegen auf dieses Heterovitamin an.

Eine ähnliche physiologische Wirksamkeit wie das Aneurin übt auch das Aneurindisulfid aus (Schopfer, 1941).

Der thermostabile Faktor M (Schopfer, 1935), z. B. im Weizenkeimextrakt enthalten, der eine Entwicklung von *Phycomyces* ermöglicht, besteht sicher zum Teil aus Pyrimidin und Thiazol. 1942 fanden Robbins und Kavanagh zwei Faktoren (Z_1 und Z_2), die auf die Sexualitätsvorgänge von *Phycomyces* einwirken und die auch thermostabil sind. Sie begünstigen auch das Wachstum und rufen in Gegenwart von Aneurin ein Mehrwachstum hervor. B_1 können sie aber nicht ersetzen. Der eine der Faktoren (Z_1) ist als Hypoxanthin bestimmt worden. Gelangt hypoxanthinhaltiges Material zur Untersuchung, so muss der *Phycomyces-Wachstumtest* in der Weise ergänzt werden, dass der synthetischen Nährlösung bereits Hypoxanthin zugefügt wird.

Ergänzend zu den Untersuchungen von Schopfer, die zeigen, dass andere Vitamine B_1 für Phycomyces nicht ersetzen können, wurden noch einige organische Säuren, wie Glykolsäure, Fumarsäure und Aepfelsäure, allein oder in Kombination mit verschiedenen Stickstoffquellen, auf ihre Wirkung auf *Phycomyces* untersucht. Keine dieser Kombinationen bewirkte ohne B_1 Wachstum.

Man kann nun den Begriff Aneurin physiologisch etwas erweitern und alle wirksamen Homologen und Analogen dazu zählen. Ausser dem Methyl-aneurin wird in der Natur wohl nur noch das Aethyl-aneurin eine Rolle spielen können, da die meisten andern Aneurin-Verwandten eine zu hohe Konzentration voraussetzen, um eine antineuritische Wirkung aufzuweisen.

Im Gegensatz zu dem *Phycomyces-Wachstumtest* spricht der *Thiochromtest* auch auf viele inaktive Aneurin-Homologe und -Analoge an, die im Pyrimidin-Ring in 4-Stellung eine Amino-Gruppe und im Thiazol-Ring in 2-Stellung ein Wasserstoffatom aufweisen, so dass man sagen darf, dass, wenn die Aneurin-Homologen und -Analogen in der Natur überhaupt eine Rolle spielen, der Thiochromtest auf keinen Fall genauere Resultate gibt als der *Phycomyces-Wachstumtest.*

Beispiel einer Aneurin-Bestimmung

Es soll der Aneurin-Gehalt von ungekeimten Melandrium-Samen bestimmt werden. Zuerst werden die zu untersuchenden Samen 3 Stunden bei 105 ° C getrocknet, dann pulverisiert und in verschiedenen Mengen in 150 ccm-Erlenmeyer-Kolben eingewogen. Dazu erhält jeder Kolben noch 25 ccm C o o n' scher Nährlösung (3 % Glukose, 1 ‰ Asparagin, 1,5 ‰ KH_2PO_4 und 0,5 ‰ $MgSO_4$ enthaltend). Darauf folgt eine viertelstündige Sterilisation bei 115 ° C im Autoklaven. Beimpft werden die Kolben mit gleichen Mengen einer homogenen Phycomyces-Sporensuspension. Nach zehntägiger Kulturdauer bei Zimmertemperatur werden die Pilzmycele abgehoben, getrocknet und gewogen. Aus den Mycel-Trokkengewichten lässt sich durch Vergleich mit jeweils parallel geführten Serien mit reinem, synthetischem B_1 anstelle des Pflanzenpulvers, die Menge der auf *Phycomyces* wirksamen Stoffe berechnen. Dazu verwendet man am einfachsten graphische Darstellungen (Abb. 3). Auf der Ordinate wird das Mycel-Trockengewicht, auf der Abszisse die dazu gehörende Menge des zugefügten synthetischen Aneurins aufgetragen. Je mehr Einzelpunkte, d. h. Einzelkulturen man zur Darstellung der Aneurin-Kurve verwenden kann, umso regelmässiger wird sie. In der vorliegenden Ar-

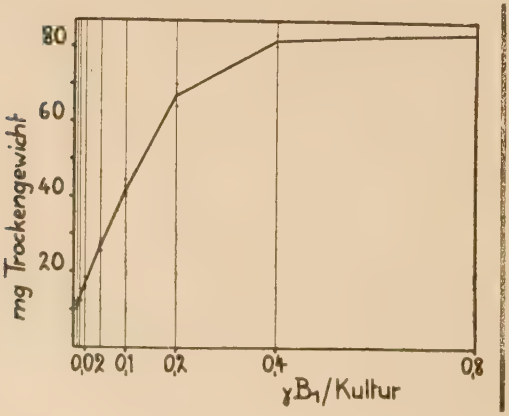

Abb. 3.
Aneurinkurve von *Phycomyces* bestimmt durch die Mycel-Trockengewichte von Kulturen mit synthetischem B_1. (Für jede B_1-Bestimmung parallel dazu neu erstellt.)

beit bestanden die Kontrollserien mit synthetischem Aneurin stets aus 60 Kulturen. Zu dem Mycel-Trockengewicht der Kulturen mit Pflanzenpulver findet man senkrecht unter der Aneurin-Kurve die dazugehörende Aneurin-Menge. Man muss noch alle gefundenen Werte auf die gleiche Gewichtseinheit Pflanzenpulver umrechnen, damit man die verschiedenen Resultate miteinander vergleichen kann (Tab. 3). Es ist unbedingt notwendig, zu jeder Versuchsserie eine neue Aneurin-Kurve aus Kulturen mit synthetischem B_1 aufzustellen, da das maximale Trockengewicht von *Phycomyces*-Kulturen, die unter gleichen optimalen Bedingungen, aber zu verschiedenen Zeiten gewachsen sind, nicht konstant ist.

TABELLE 3.

Bestimmung des Aneurin-Gehaltes von *Melandrium*-Samen.

Menge des zugefügten Samenpulvers:	2	4	6	8	10 mg
Trockengewicht der Pilzmycele:	17	24	32	34	38 mg
	20	24	32	36	42 mg
Durchschnitts-Trockengewicht:	18,5	24	32	35	40 mg
Entsprechende Vitamin B_1-Menge:	10,0	11,25	11,33	9,63	9,25 γ/g Tg.

Aneuringehalt des untersuchten Samenpulvers: 10,3 γ B_1 pro g Trockengewicht

Je mehr Einzelwerte man bei einer B_1-Bestimmung berücksichtigen kann, umso zuverlässiger kann der Vitamin-Gehalt angegeben werden. Die hier angegebenen Aneurin-Mengen stützen sich jede auf 10 Kulturen.

Der Aneurin-Gehalt während der Keimung

Zur Keimung wurde je ein g *Melandrium*-Samen in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier ausgelegt. Die Keimlinge konnten auf diese Weise bis zu einem Alter von ungefähr 23 bis 25 Tagen gezüchtet werden. Bis zu diesem Zeitpunkt hatte sich das erste Blattpaar gebildet. Zur Vitamin-Bestimmung wurden sämtliche Keimlinge und Samen einer Petrischale verwendet.

A. *Keimung am Licht:* Die Zimmertemperatur schwankte in dieser Zeit zwischen 14 und 18° C. Während der Quellung sinkt der Aneurin-Gehalt des Samens bis auf ein bis zwei Drittel der ursprünglichen Menge. Nach dem Aneurin-Minimum am sechsten Tag steigt der Gehalt wieder an und erreicht in zwei bis sechs Tagen wieder die ursprüngliche Höhe (Abb. 4).

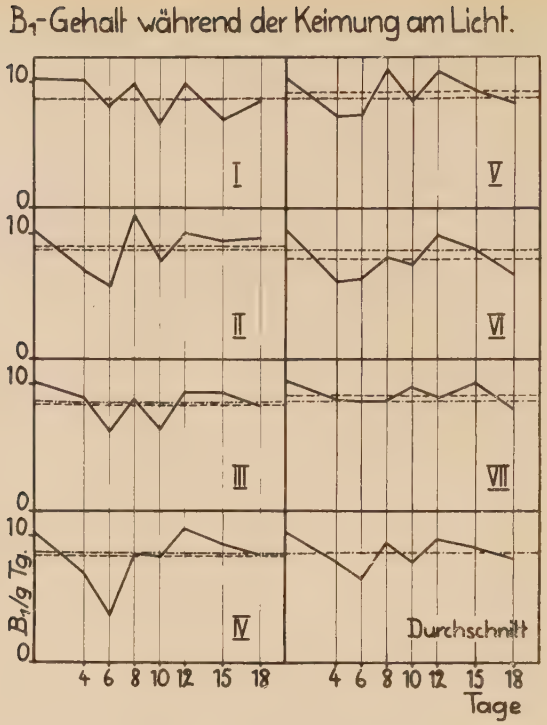

Abb. 4.

B_1-Gehalt von *Melandrium album* während der Keimung am Licht. I + H_2O dest., II + Sachs'sche Nährlösung, III + N + P (1 ‰), IV + P, V + Sachs'sche Nährlösung + N, VI + N, VII + Sachs'sche Nährlösung + P. — — — — = Seriendurchschnitt. —·—·—·—· = Generaldurchschnitt.

B. *Keimung im Dunkeln:* Die Temperatur wurde bei diesem Versuche konstant auf 21 ° C gehalten. Wieder kann ein Absinken des Aneurin-Gehaltes während der Quellung festgestellt werden. Das Minimum, ungefähr gleich tief wie bei der Licht-Keimung, wird aber erst am elften Tag erreicht. Zum Unterschiede vom ersten Versuch bleiben die Keimlinge im Dunkeln gelb, ohne Chlorophyll-Bildung zu zeigen. Trotzdem steigt mit dem Wachstum der Keimlinge ihr Aneurin-Gehalt wieder, gleich wie bei den ergrünenden Keimlingen. Die Aneurin-Synthese scheint also von Chlorophyll unabhängig zu sein (Abb. 5).

Gleichzeitig wurde versucht, den Aneurin-Gehalt während der Keimung durch äussere Einflüsse zu verändern. An Stelle des destillierten Wassers wurden zur Keimung Düngerlösungen verwendet. Als Stickstoffquelle wurde Harnstoff (46 % N) verwendet, für Phosphor Superphosphat dreifach (45 % Phosphorsäuren,

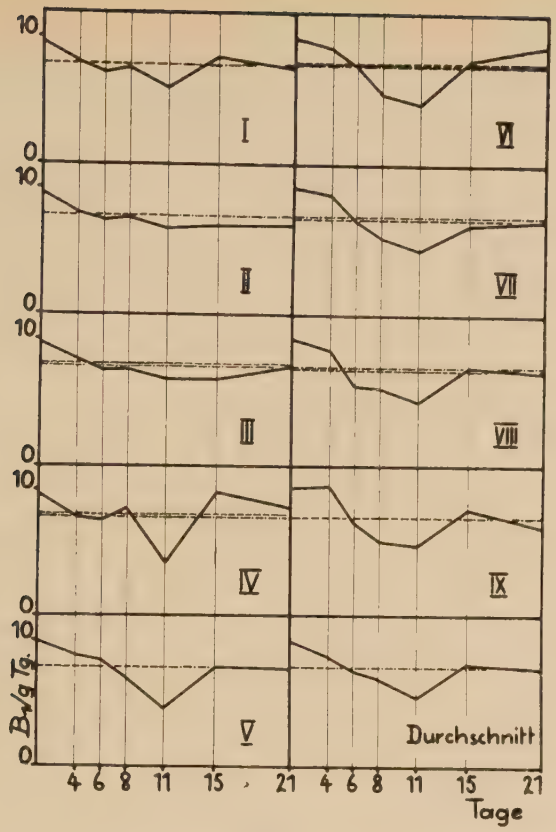

Abb. 5.

B_1-Gehalt von *Melandrium album* während der Keimung im Dunkeln. I + K (1 ‰), II + Sachs'sche Nährlösung + K, III + K + P, IV + Sachs'sche Nährlösung + K + N, VII + K + N + P, VIII + Sachs'sche Nährlösung + K + N + P, IX + Sachs'sche Nährlösung + N + P.

— — — — = Seriendurchschnitt. —·—·—·— = Generaldurchschnitt.

17 % K) und Kalisalz (30 % K). Die Dünger wurden 10 mal konzentrierter als in der Praxis üblich, in 1 ‰ Verdünnung, gebraucht. Die Dünger wurden einzeln und kombiniert zugegeben. Eine Serie Keimlinge erhielt gleichzeitig noch Sachs'sche Nährlösung (1000 ccm Wasser, 1,0 g KNO_3, 0,5 g $CaSO_4$, 0,5 g $MgSO_4$, 0,5 g $Ca_3(PO_4)_2$ und Spuren Eisenchlorid).

Der Einfluss der Düngung auf den Vitamin B_1-Gehalt während der Keimung ist nur klein. Es zeigt sich, dass eine einseitige Düngung den Aneurin-Gehalt eher herabdrückt, wobei vor allem Phosphor diese Wirkung ausübt. Sachs'sche Nährlösung hebt diesen Einfluss zum grössten Teil auf und bringt den B_1-Gehalt auf

oder über den Durchschnitt. Einzelne Mineralien oder deren Kombination, die in der Sachs'schen Nährlösung enthalten sein müssen, fördern also die Aneurin-Synthese.

In einer andern Versuchsreihe wurden dem destillierten Wasser Aneurin und seine Komponenten Thiazol und Pyrimidin kombiniert und einzeln zugegeben. Wie Abb. 6 zeigt, wird merkwürdigerweise nur das Aneurin durch die Keimlinge aufgenommen und aufgespeichert, während Thiazol und Pyrimidin kombiniert nicht aufgenommen und aufgespeichert oder aber zerstört werden. Die Gabe der einen Komponente allein fördert die Aneurin-Synthese des Keimlings nicht.

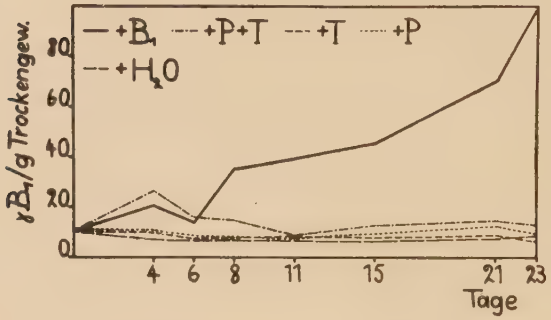

Abb. 6.
B_1-Gehalt von *Melandrium album* während der Keimung bei Zugabe von Vitamin $_1$ und dessen Komponenten Pyrimidin (P) und Thiazol (T).

In einer weitern Versuchsreihe wurden die Samen bei verschiedenem pH zur Keimung gebracht. Bei pH 3 bis 6 keimen vorerst nur vereinzelte Samen. Bei pH 7 und 8 lässt sich kein Unterschied in Wachstum und Vitamin B_1-Gehalt feststellen. Sie zeigen ebenfalls am 6. Tage ein Vitamin-Minimum. Die Samen im sauren Milieu scheinen sich nach ca. 10 Tagen angepasst (teilweise) zu haben. Auch der Aneurin-Gehalt steigt langsam wieder an. Die Kulturen gingen aber zugrunde, bevor ein Ausgleich mit den Kulturen bei pH 7 und 8 zustande kam.

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass die Ergebnisse der Arbeiten von Heller, Kucera und Hlavaty bestätigt werden. Der Aneurin-Gehalt nimmt zu Anfang der Keimung, während der Quellung, ab. Bei Licht erfolgt die Abnahme schneller als im Dunkeln. Wenn die kleinen Würzelchen der Keimlinge erscheinen, steigt der Vitamin B_1-Gehalt wieder an. *Die Aneurin-Synthese muss also mit dem Wachstum zusammenhängen*, ohne aber von Chlorophyll direkt abhängig zu sein. Sie kann durch mineralische Stoffe gefördert werden, während Phosphordüngung sie eher zu hemmen scheint.

Die Verteilung des Aneurins in der Pflanze während dem weitern Wachstum

Bevor die Wirkung verschiedener Einflüsse auf den B_1-Gehalt einer Pflanze untersucht werden kann, muss die normale Verteilung des Aneurins während der Entwicklung untersucht werden.

Das Saatgut der untersuchten Melandrium-Pflanzen stammte aus Wageningen und war, wie die Kulturergebnisse zeigten, sehr einheitlich. Die Samen wurden in Schalen ausgesät, nach ungefähr 14 Tagen pikiert und nach weitern 14 Tagen einzeln in Töpfe ausgepflanzt. Diese wurden in Glashäusern auf umgekehrte Töpfe gestellt, damit die Wurzeln der *Melandrium*-Pflanzen nicht irgendwelche Stoffe aus der Unterlage aufnehmen konnten.

Variationsbreite des Aneurin-Gehaltes gleichaltriger Pflanzen

Zuerst einmal muss die Variationsbreite des Aneurin-Gehaltes in mehreren gleichaltrigen Pflanzen, die unter gleichen Bedingungen gezogen worden waren, festgestellt werden. Zu diesem Zwecke wurden von 9 jungen Rosetten-Pflanzen je die drei jüngsten Blattpaare auf ihren Aneurin-Gehalt mit dem *Phycomyces-test* untersucht. Als erstes Blattpaar wird immer das jüngste bezeichnet. Bei einer Rosetten-Pflanze sind es die zwei innersten Blätter, die die Knospe einschliessen, bei ältern Stengel-Pflanzen die zwei obersten, unterhalb des Vegetationspunktes. Das 2. Blattpaar entspricht dem zweitjüngsten Paar usw. Auf diese Weise soll erreicht werden, dass immer physiologisch gleichaltrige Blattpaare miteinander verglichen werden (nicht chronologisch gleichaltrige). Wie aus Tabelle 4 ersichtlich ist, sind die Unterschiede im B_1-

TABELLE 4.

Variation des Aneurin-Gehaltes gleichaltriger *Melandrium*-Rosettenpflanzen. B_1-Gehalt in γ pro g Trockengewicht der drei jüngsten Blattpaare. (Jüngstes = innerstes Blattpaar.)

Pflanze	Blattpaar 1.	2.	3.	Durchschnitt
1.	6,0	6,2	6,2	6,1
2.	7,0	10,6	9,1	8,9
3.	12,9	9,5	8,3	10,2
4.	12,5	8,5	6,6	9,2
5.	12,4	8,1	5,0	8,5
6.	10,2	11,1	7,1	9,5
7.	15,7	14,8	5,4	12,0
8.	15,7	11,7	11,4	12,9
9.	12,4	15,4	11,9	13,1
Durchschnitt:	11,6	10,6	7,8	10,0

Gehalt der einzelnen Pflanzen sehr gross. Der Durchschnitt schwankt zwischen 6 und 13 γ B_1 pro g Trockengewicht. Daraus ergibt sich, dass für die Untersuchung der Wirkung äusserer Einflüsse auf den Aneurin-Gehalt nicht auf die Resultate einzelner Pflanzen abgestellt werden darf. Man kann nur mit Durchschnittswerten aus mehreren Pflanzen rechnen.

Verteilung des Aneurins nach dem Blattalter

Bereits aus dem letzten Versuch, sowie aus Tabelle 5, in der der Aneurin-Gehalt der einzelnen Blattpaare verschieden alter *Melandrium*-Pflanzen angegeben ist, geht hervor, dass die jüngsten Blätter deutlich am meisten Vitamin B_1 enthalten. Der B_1-Gehalt sinkt vom jüngsten bis zum ältesten Blattpaar je nach dem Alter der Pflanze verschieden rasch ab. Den höchsten Aneurin-Gehalt

TABELLE 5.

Verteilung des Aneurins nach dem Blattalter.
1. Blattpaar = jüngstes = oberstes bei Stengelpflanzen, innerstes bei Rosettenpflanzen. B_1-Gehalt in γ pro g Trockengewicht.

Pflanze:	1.	2.	3.	4.	5.	6. Blattpaar
L. 257	5,3	3,9	3,4	5,1	5,0	5,6
O. 132	5,2	6,0	6,0	8,8	6,3	5,0
L. 226	3,8	1,7	0	0	0	0
O. 122	20,3	10,2	9,0	6,8	8,3	5,7
SP. 10	11,3	9,7	7,5	7,0	2,5	—
L. 139	6,0	7,5	8,4	9,4	8,3	6,3
K. 336	7,2	9,3	8,4	6,2	5,2	5,1
L. 265	4,7	4,7	3,7	4,5	3,9	3,9
L. 260	5,3	4,7	5,4	5,3	6,2	6,2
O. 40	15,3	12,4	10,8	11,6	16,4	13,1
K. 376	8,5	10,3	8,5	9,7	7,5	7,3
SP. 8	9,3	11,2	9,9	8,3	8,0	—
SP. 18	7,1	8,0	9,5	8,4	7,5	—
SP. 19	6,8	6,1	9,4	7,2	6,3	—
Durchschnitt	8,3	7,2	7,1	7,0	6,4	5,8

weisen Rosetten-Pflanzen auf, die sich zu strecken beginnen und in die Höhe wachsen wollen. Ist einmal der Stengel gebildet und die normale Blüh-Höhe erreicht, so sinkt der Aneurin-Gehalt der Blätter bereits ab, nicht aber der der Knospe. Die Abnahme kann so weit gehen, dass die untersten Blätter überhaupt keine Aneurin-Wirkung auf *Phycomyces* mehr zeigen, trotz ihrem normalen Aus-

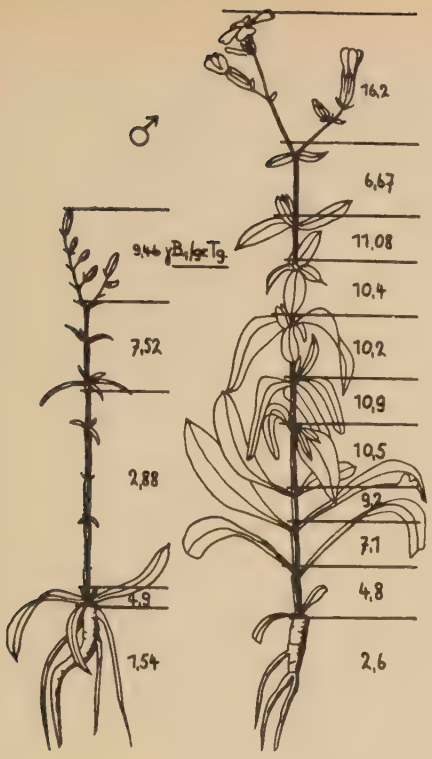

Abb. 7.
Aneurin-Gehalt von männlichen *Melandrium album*-Pflanzen (γ B_1 pro g Trockengewicht Pflanzenpulver).

sehen. Oft nimmt der Aneurin-Gehalt von einem jüngern zu einem ältern Blatt wieder zu. Spezielle Versuche zeigen, dass diese Sprünge, die die regelmässige Abnahme des B_1-Gehaltes von oben nach unten stören, stets bei solchen Blattpaaren auftreten, in deren Blattwinkel sich eine Seitenknospe entwickelt (Abb. 7 und 8). Das Wachstum der Seitentriebe scheint den Aneurin-Gehalt der Deckblätter zu fördern.

Der Aneurin-Gehalt der Wurzel beträgt ungefähr ein Fünftel bis ein Zehntel des Gehaltes der jüngsten Blätter.

Der B_1-Gehalt ist mit Ausnahme der Wurzel immer dort am höchsten, wo Wachstum stattfindet.

Einfluss der Knospe auf den Aneurin-Haushalt

Um die Rolle der Knospe im Aneurin-Haushalt der Pflanze besser abzuklären, wurde eine Serie Pflanzen ohne Terminalknospe gleichzeitig mit einer normalen Kontrollserie gezogen und

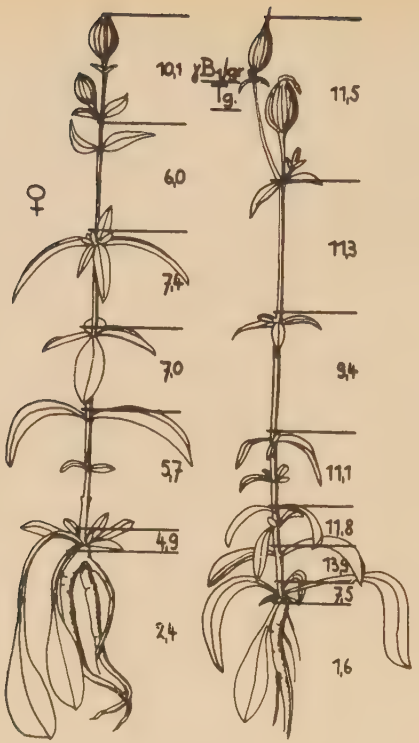

Abb. 8.
Aneurin-Gehalt von weiblichen *Melandrium album*-Pflanzen (γ B_1 pro g Trockengewicht Pflanzenpulver).

der B_1-Gehalt deren Blattpaare im Verlaufe von über 2 Monaten verfolgt (Abb. 9). Das oberste Blattpaar der Pflanzen ohne Terminalknospe wird viel grösser als normal. Es scheint während der ersten Zeit die Funktionen der Knospe zu übernehmen. Sein Aneurin-Gehalt steigt zuerst durchschnittlich an, fällt aber im Verlaufe der nächsten 2 Monate rascher ab, als bei den Pflanzen mit Terminalknospe. Inzwischen haben sich die Seitentriebe der Pflanzen ohne Terminalknospe stärker entwickelt als normal und lösen das erste Blattpaar in seinen Funktionen ab, das, weil bereits stark differenziert, nicht über ein gewisses Mass hinauswachsen kann. Der B_1-Gehalt des ersten Blattpaares sinkt unter den Gehalt des zweiten mit Seitenknospen. Das erste Blattpaar der Pflanze ohne Terminalknospe altert physiologisch rascher, als das erste Blattpaar der normalen Pflanze. Die Terminalknospe, die stets physiologisch gleich jung bleibt, weil sie stets weiter wächst und den aus embryonalem Gewebe bestehenden Vegetationspunkt einschliesst, kann für die Dauer nicht durch ein Organ ersetzt werden, das physiologisch altert und nicht mehr die gleichen Synthese-Fähigkeiten aufweist.

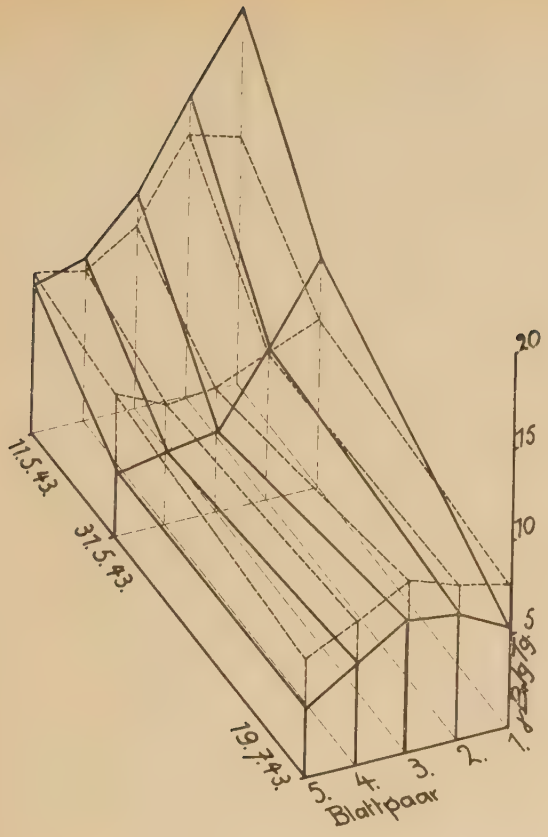

Abb. 9.
Aneurin-Gehalt von *Melandrium album* mit (— — — —) und ohne (——) Terminalknospe. (14, 34 und 83 Tage nach Entfernung der Terminalknospe.)

Der Einfluss des Geschlechtes auf den Aneurin-Gehalt

Es stellt sich die Frage, ob bei dem diözischen *Melandrium album* ein Unterschied im B_1-Gehalt zwischen männlichen und weiblichen Pflanzen besteht, und wenn ja, ob der Unterschied bereits bei den jungen Rosetten-Pflanzen zu finden sei, oder ob er erst bei den blühenden Pflanzen zum Ausdruck komme? Um diese Frage abzuklären, wurden 200 Pflanzen in 4 Gruppen eingeteilt (A, B, C, D), da nicht allen Pflanzen zusammen ein Standort mit genau gleichen Bedingungen zur Verfügung gestellt werden konnte. Unter 11 Malen wurden aus diesen 4 Gruppen je eine Pflanze im Rosettenstadium zur B_1-Analyse herangezogen. Diese 44 entblätterten Pflanzen wurden überwintert und im nächsten Jahr im Freien ausgepflanzt, um sie zum Blühen zu bringen und nachträglich ihr Geschlecht zu ermitteln. Wie sich dann herausstellte, waren von den 44 untersuchten Pflanzen 24 Männchen und

20 Weibchen. Von diesen Pflanzen wurden die drei jüngsten Blattpaare auf ihren Aneurin-Gehalt untersucht und zwar wurde er auf das Trockengewicht, das Frischgewicht und die Blattoberfläche bezogen. Zur Feststellung der Blattoberfläche wurde der Umriss des Blattes auf dünnen Karton gezeichnet, ausgeschnitten und gewogen. Aus dem Gewicht der Kartonblätter wurde ihre Oberfläche berechnet. Geradezu sehr gut stimmen die Durchschnittswerte aller weiblichen und männlichen Pflanzen in den Tabellen 6 und 7 überein, so dass man sagen kann, dass zwischen den beiden Geschlechtern von *Melandrium album* in jugendlichen Stadien absolut kein Unterschied im Aneurin-Gehalt besteht, werde er nun auf das Trockengewicht, Frischgewicht oder die Blattoberfläche bezogen. Auf Grund der Ergebnisse dieser Versuche wurde

TABELLE 6.

Aneurin-Gehalt der drei jüngsten Blattpaare von männlichen *Melandrium*-Rosettenpflanzen in γ B_1, bezogen auf Trockengewicht (Tg.), Frischgewicht (Fg.) und Blattoberfläche (100 cm^2).

Datum	Pflanze	I Blattpaar			II Durchschnitt		
		1.	2.	3.	g Tg.	g Fg.	100 cm^2
8. 10. 41	B 1	12,0	8,6	3,7	8,1	0,57	1,2
	C 1	13,6	10,0	9,0	10,9	0,84	1,7
11. 10. 41	A 2	10,1	6,5	9,2	8,6	0,76	1,9
	B 2	9,6	6,9	5,9	7,5	0,52	1,3
	C 2	10,2	7,5	8,5	8,7	0,57	1,3
	D 2	8,6	7,5	5,8	7,3	0,53	1,2
14. 10. 41	A 3	5,7	5,4	4,1	5,1	0,38	1,0
17. 10. 41	A 4	10,8	8,5	3,4	7,6	0,74	1,7
20. 10. 41	A 5	7,6	5,8	5,2	6,2	0,62	1,6
	C 5	7,5	6,5	6,3	6,8	0,50	1,1
23. 10. 41	A 6	8,2	7,6	5,9	7,2	0,71	2,0
	C 6	5,6	3,6	2,8	4,0	0,33	0,8
29. 10. 41	A 8	6,0	4,2	2,7	4,3	0,44	1,2
	C 8	2,6	2,8	2,3	2,6	0,28	0,7
	D 8	1,8	2,3	1,2	1,8	0,21	0,4
3. 11. 41	A 10	5,5	4,0	3,0	4,2	0,53	1,4
	B 10	5,0	4,9	5,2	5,0	0,63	1,5
7. 11. 41	A 11	5,7	5,9	4,5	5,4	0,73	2,0
	B 11	5,7	6,3	3,4	5,1	0,58	1,6
	D 11	6,1	6,2	7,3	6,5	1,39	2,9
10. 11. 41	C 13	5,6	5,2	4,7	5,2	0,81	2,0
	D 12	4,0	5,1	3,8	4,3	0,76	1,6
15. 11. 41	A 16	5,7	5,4	6,5	5,9	0,82	2,1
	B 17	7,8	6,6	6,5	7,0	1,00	2,8
Durchschnitt:		7,1	6,4	5,0	6,1	0,64	1,54

I = γ B_1/g Trockengewicht der 3 jüngsten Blattpaare.
II = Durchschnittswerte der 3 jüngsten Blattpaare.

TABELLE 7.

Aneurin-Gehalt der drei jüngsten Blattpaare von weiblichen *Melandrium*-Rosettenpflanzen in γ B_1, bezogen auf Trockengewicht (Tg.), Frischgewicht (Fg.) und Blattoberfläche (100 cm^2).

Datum	Pflanze	I Blattpaar			II Durchschnitt		
		1.	2.	3.	g Tg.	g Fg.	100 cm^2
8. 10. 41	A 1	17,6	8,4	9,6	11,9	0,89	2,1
	D 1	11,9	6,1	5,2	7,7	0,67	1,4
14. 10. 41	B 3	8,0	5,2	4,0	5,7	0,44	1,2
	C 3	10,0	7,2	4,5	7,2	0,53	1,2
	D 3	5,0	4,5	4,7	4,7	0,69	1,1
17. 10. 41	B 4	5,3	5,0	4,8	5,0	0,42	0,9
	C 4	9,7	3,2	4,8	5,9	0,53	1,2
	D 4	6,7	5,4	—	6,1	0,59	1,0
20. 10. 41	B 5	6,7	4,8	3,7	5,1	0,38	0,9
	D 5	8,6	6,7	5,6	7,0	0,78	1,6
23. 10. 41	B 6	4,8	3,3	1,0	3,0	0,37	0,9
	D 6	5,6	5,6	—	5,6	0,85	1,7
29. 10. 41	B 8	5,1	2,3	1,9	3,3	0,28	0,7
3. 11. 41	C 10	6,4	5,2	5,1	5,6	0,75	1,7
	D 10	5,3	6,4	5,6	5,8	0,96	2,0
7. 11. 41	C 12	9,0	5,8	6,4	7,1	0,94	2,1
10. 11. 41	A 15	7,7	5,3	4,3	5,9	0,88	2,1
	B 16	5,8	4,4	4,6	4,9	0,75	1,7
15. 11. 41	C 15	10,6	7,6	6,3	8,2	1,32	2,5
	D 14	6,2	6,9	6,5	6,5	1,29	3,0
Durchschnitt:		7,8	5,5	4,9	6,1	0,72	1,55

I = γ B_1/g Trockengewicht der 3 jüngsten Blattpaare.
II = Durchschnittswerte der 3 jüngsten Blattpaare, bezogen auf Trockengewicht, Frischgewicht und Blattoberfläche.

bei andern B_1-Bestimmungen der B_1-Gehalt nur noch auf das Trockengewicht bezogen, da die drei Werte ja ziemlich proportional zueinander sind.

Während dem Blühen beginnen sich die männlichen und weiblichen Pflanzen im Aneurin-Gehalt zu unterscheiden. Der Unterschied beschränkt sich allerdings nur auf die Blüten, denn in den Fruchtknoten muss den Samen ja eine bestimmte Menge Aneurin als Vorrat für die Keimung mitgegeben werden. Die männlichen Blüten dagegen verwelken bald nach ihrem Erblühen und sterben ab. Damit muss natürlich auch ihr B_1-Gehalt absinken. Wie aber Abbildung 10 zeigt, sind schon die männlichen Blütenknospen Aneurin-ärmer als die weiblichen. Im Verlaufe des Blühens verhält sich der Aneurin-Gehalt wie oben schon aufgezeichnet. Bei den Weibchen bleibt er ungefähr auf gleicher Höhe, während er bei den Männchen rasch absinkt. (Die Männchen altern physiologisch rasch.)

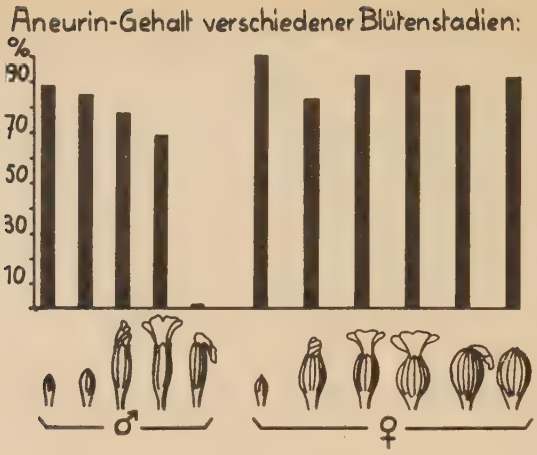

Abb. 10.
Aneurin-Gehalt von männlichen und weiblichen *Melandrium album-Blüten* während verschiedenen Blühstadien.
(Weibliche Blütenknospe = 100 %.)

Als Resultat dieser Versuche ergibt sich, dass der Vitamin B_1-Gehalt einer Pflanze nicht einen konstanten Wert darstellt, ganz abgesehen davon, ob äussere Einflüsse ihn irgendwie beeinflussen. Der Aneurin-Gehalt eines Pflanzenteils ist von dessen physiologischem Alter abhängig. Will man die Wirkung irgend eines Faktors auf den B_1-Gehalt untersuchen, so muss immer gleichzeitig eine Serie unter möglichst normalen Verhältnissen als Kontrollserie mitverwendet werden. Zudem ist man gezwungen, grosse Serien von Pflanzen zu ziehen, damit man auch möglichst ähnliche Pflanzen der verschiedenen Serien in bezug auf Grösse, Beblätterung, Seitenknospen und Form, das heisst, möglichst Pflanzen von gleichem physiologischen Alter mit einander vergleichen kann.

Da die vorliegenden Ergebnisse über die Aneurin-Verteilung in *Melandrium album* mit den Resultaten von Rytz jun. mit *Pisum*, von Bonner mit *Tomate*, und von Burkholder und Mitarbeitern mit *Mais*, *Zuckerrohr* und *Eiche* übereinstimmen, dürfen sie, da die verschiedenen Pflanzen ja den verschiedensten Familien angehören, wohl verallgemeinert werden. Ueberall wo Wachstum stattfindet, mit Ausnahme der Wurzel, wird ein hoher B_1-Gehalt gefunden. Hört das Wachstum auf, so sinkt der B_1-Gehalt ab, trotzdem die Blätter weiter assimilieren und sich einzig durch das Aufhören ihres Wachstums von den andern unterscheiden. Ob das Wachstum oder der erhöhte B_1-Gehalt das primäre ist, kann nicht bestimmt werden. Jedenfalls ergibt sich, dass der Aneurin-Gehalt einer Pflanze als dynamische, zeitgebundene Erscheinung betrachtet werden muss und nicht durch eine einfache Zahl angegeben werden kann.

Der Einfluss der Düngung auf den Aneurin-Gehalt

Die Pflanzen wurden wie in den vorherigen Versuchen als Topfkulturen in Glashäusern gezogen. In der 1. Versuchsreihe (1942) wurden die Serien geteilt. Die eine Hälfte erhielt gewöhnliche Kompost-Erde, die andere wurde auf Sand gezogen. Der Sand war vorher mit Salzsäure gewaschen und mit Wasser gut gespült worden. Vorerst wurden nur Floranid = Harnstoff (46 % N) und Superphosphat dreifach (45 % Phosphorsäuren, 17 % Kali) einzeln und kombiniert in verschiedenen Konzentrationen zur Düngung verwendet. Ursprünglich wurden 10 Serien auf Erde und 10 auf Sand gezogen. Die 1. Serie erhielt jeweils reines Wasser und diente als Kontrolle. Die nächsten 3 Serien wurden mit Stickstoff gedüngt. Dabei erhielt die 2. Serie 0,1 ‰ Harnstoff (die in der Praxis übliche Konzentration), die 3. Serie 1 ‰ und die 4. Serie 1 %. Der Dünger wurde dem Giesswasser in entsprechender Konzentration zugefügt. Alle Pflanzen erhielten während einer Düngung 30 ccm Lösung. Je nach dem Wetter (nach der Luftfeuchtigkeit) musste in der Woche bis zu dreimal gegossen werden. Die 5., 6. und 7. Serie erhielt zum Giesswasser Phosphor-Dünger in gleichen Konzentrationen wie der Harnstoff. Bei der 8., 9. und 10. Serie wurden die beiden Dünger bei gleichen Konzentrationen kombiniert. Serie 4 und 10 gingen jedoch zufolge der zu hohen Harnstoff-Konzentration ein, bevor Aneurin-Analysen gemacht werden konnten. Dem Giesswasser der Sandkulturen wurde immer noch Knopp'sche Nährlösung zugefügt.

Zur B_1-Bestimmung wurden, um vergleichbare Resultate zu erhalten, immer die 3 jüngsten Blattpaare einer Pflanze verwendet. Auf diese Weise wurden Blattpaare von möglichst gleichem physiologischen Alter miteinander verglichen. Um die Schwankungen des Aneurin-Gehaltes der Einzelpflanzen auszugleichen, wurden von einer Serie gleichzeitig die gleichaltrigen Blattpaare dreier Pflanzen verwendet. Da bei dieser Versuchsanordnung immer ungefähr 600 *Phycomyces*-Kulturen notwendig waren (= 1200 Wägungen), konnte der Einfluss der Kalidüngung nicht gleichzeitig untersucht werden, weil sonst die Versuche zur B_1-Bestimmung nicht mehr hätten bewältigt werden können. Die Wirkung des Kalis wurde im folgenden Jahr (1943) gleichzeitig mit der Volldüngung untersucht. 5 Serien, die 1. ungedüngt als Kontrolle, die 2. und 3. mit 0,1 ‰, beziehungsweise mit 1 ‰ Kalisalz (30 % K), die 4. und 5. mit je 0,1 ‰ und 1 ‰ K + P + N gedüngt, wurden als Erdkulturen gezogen. 1942 waren die Kulturen vor der ersten Blätterernte 15 Mal, 1943 12 Mal gedüngt worden. Es handelt sich also um eine Dauerdüngung.

Ergebnisse (Abb. 11, 12 und 13):

a. *Erdkulturen:* Die Stickstoff und Kali-Düngung, wie auch die Volldüngung fördern den Aneurin-Gehalt. Bei der Stickstoff-Düngung ist die Förderung proportional der Dünger-Konzentration. Die Phosphor-Düngung dagegen bewirkt eine Verminderung

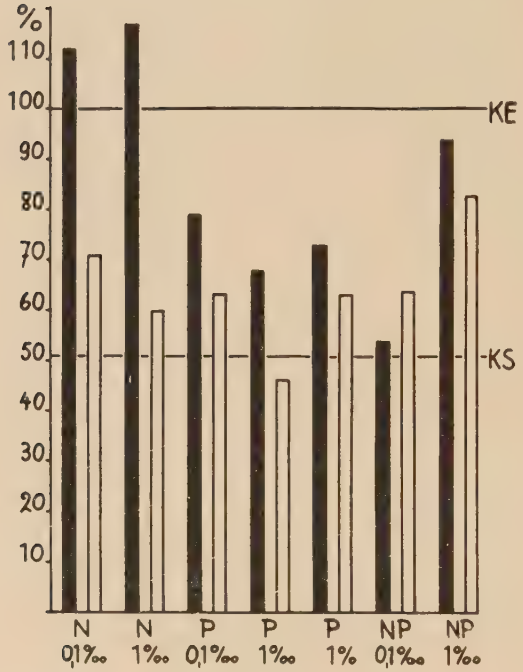

Abb. 11.
Einfluss der Düngung auf den Aneurin-Gehalt von *Melandrium album*. KE = ungedüngte Kontrolle auf Erde, KS = ungedüngte Kontrolle auf Sand.
Erdkulturen
Sandkulturen
Vitamin-Gehalt der ungedüngten Erdkulturen = 100 %.

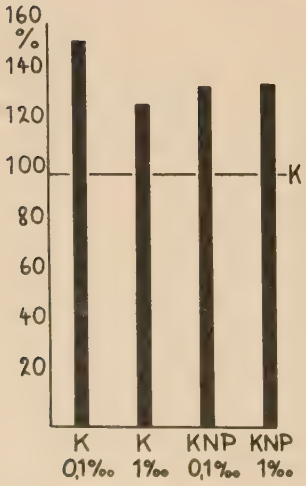

Abb. 12.
Einfluss der Kali- und Volldüngung auf den Aneurin-Gehalt von *Melandrium album* (Erdkulturen). K = Aneurin-Gehalt der ungedüngten Kontrollen = 100 %.

des Aneurin-Gehaltes. Diese Hemmung ist der Dünger-Konzentration nicht proportional. Die Kombination Phosphor-Stickstoff-Düngung ergibt die merkwürdige Feststellung, dass bei schwacher Konzentration die Phosphorwirkung (die Hemmung) stark überwiegt, dass also der Aneurin-Gehalt gesenkt wird. Bei erhöhter Dünger-Konzentration wird die Phosphorwirkung durch den Stickstoff grösstenteils aufgehoben.

Die fördernde Wirkung der Stickstoff-Düngung kann nicht durch ungleiches physiologisches Alter der Pflanzen gegenüber den Kontrollen erklärt werden, trotzdem die Pflanzen mit der 1 ‰igen Düngung sich schneller entwickeln, denn die Pflanzen der N-P-Düngung zeigen gegenüber den Kontrollen keinen erhöhten B_1-Gehalt, trotzdem sie sich ebenso schnell wie die Pflanzen mit N-Düngung entwickeln.

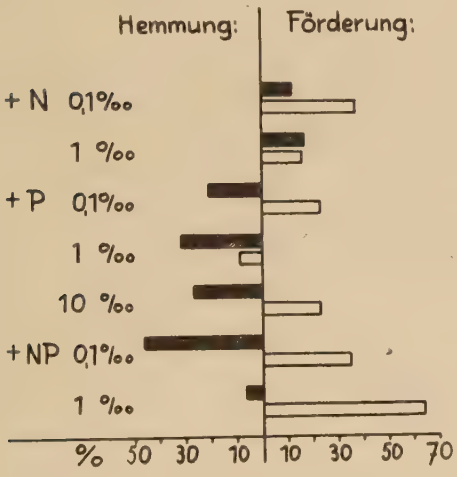

Abb. 13.
Prozentuale Hemmung und Förderung des Aneurin-Gehaltes durch die Düngung von *Melandrium album* gegenüber den ungedüngten Kontrollen.
Erdkulturen
Sandkulturen

K o c h e r hat 1941 gezeigt, dass durch die N-Düngung der Gesamt-Stickstoff-Gehalt von *Melandrium album* erhöht wird. (Uebrigens ist die Verteilung des Stickstoffes nach der Arbeit von K o c h e r in *Melandrium* ungefähr gleich wie die Aneurin-Verteilung. Die physiologisch jüngsten Blätter weisen auch den höchsten N-Gehalt auf. Der einzige Unterschied besteht darin, dass beim N-Gehalt deutliche Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern festzustellen sind.) Diese Differenz im N-Gehalt des Blattpulvers kann aber nicht für die fördernde Wirkung auf *Phycomyces* verantwortlich gemacht werden. Die grösste Menge Stickstoff, die in 10 mg Blattsubstanz zu einer Kultur zugefügt werden könnte, beträgt 8 % des Trockengewichtes, also 0,8 mg Gesamtstickstoff. Davon liegt sicher nur ein kleiner Teil in Form von Asparagin vor, wenn es überhaupt vorkommt. Wäre im Blatt-

CONCLUSIONS.

La biosynthèse de l'aneurine chez la plante supérieure. L'influence des conditions culturales sur la teneur en aneurine de Melandrium album. Par H. Hurni.

Le taux en aneurine a été déterminé dans les différentes parties de *Melandrium album* au cours de son développement, à l'aide du test *Phycomyces*. C'est dans les parties de la plante physiologiquement les plus jeunes que le taux en vitamine B_1 est le plus élevé. Il semble que la vitamine est formée dans les bourgeons et dans les jeunes feuilles, et conduite ensuite dans les racines. On peut constater, des plus jeunes feuilles aux plus anciennes, une diminution régulière du taux en aneurine. Le taux moyen de la vitamine est dépendant du sol dans lequel la plante croît. Des cultures sur sable présentent un taux en vitamine B_1 beaucoup plus bas que des cultures sur terre, à développement égal. On élève le taux en B_1 en ajoutant de l'engrais N, K ou de l'engrais complet. L'engrais N provoque, dans certaines limites, une augmentation du taux en aneurine proportionnelle à la concentration de l'engrais. L'engrais P abaisse le taux en B_1. Dans les milieux pauvres (sable), tous les engrais élèvent le taux de la vitamine. Une différence de taux en B_1 liée au sexe n'apparait que dans le bourgeon floral et la fleur.

The biosynthesis of aneurin in the higher plants. The B_1-rate of Melandrium album under different conditions. By H. Hurni.

The rate of aneurine has been determined in the different parts of *Melandrium album* during its development with help of the *Phycomyces growth essay*. The rate of vitamin B_1 is the highest in the youngest parts of the plant. It seems that the vitamin is formed in the growing buds and in the young leaves, to be then led to the roots. From the youngest leaves to the oldest ones, a regular decrease in the B_1 rate has been observed. The average rate of aneurine is dependant of the soil in which the plant is growing. Sand mediums show a much lower vitamin rate than earth mediums, equally developped. The B_1 rate is raised when N or K manure, or complete one, is added. The N manure provokes, in certain limits, a raise of the B_1 rate which is proportional to the concentration of the manure. The P manure makes the aneurin rate sink. In poor mediums (sand), every kind of manure raises the rate of the vitamin. Between male and female Melandrium plants, the only difference in the B_1 rate is in the flower bud and in the flower.

Die vorliegende Arbeit wurde in den Jahren 1941—44 im botanischen Institut der Universität Bern unter Leitung meines hochverehrten Lehrers, Herrn Prof. Dr. W. H. Schopfer, ausgeführt. Ich möchte ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, und für die wertvollen Anregungen, mit denen er mich unterstützte. Auch möchte ich die Zuwendung aus dem Eduard-Fischer-Fonds an die Chemikalienkosten bestens verdanken. Ferner möchte ich noch die wertvolle Mitarbeit von Herrn J. Nyffeler, Gärtner am botanischen Garten der Universität Bern, bei der Kultur der Pflanzen dankend erwähnen.

Literatur-Verzeichnis

1. *Arnon*, Science 1940, **92**, 264. — 2. *Black Kifer & Munzell*, J. Agricult. 1932, **44**, 767. — 3. *Bonner & Greene*, Bot. Gaz. 1938, **100**, 226. — 4. *Bonner*, Amer. J. Botany 1942, **29**, 136. — 5. *Burkholder & McVeigh*, Amer. J. Botany 1940, **27**, 853. — 6. *Burkholder & Snow*, Bull. Torrey Bot. Club 1942, **69**, 421. — 7. *Gorham*, Amer. J. Botany 1941, **28**, 98. — 8. *Hamner*, Bot. Gaz. 1940, **102**, 156. — 9. *Harris*, Vitamins and vitamin deficiencies. 1938, Vol. 1. — 10. *Heller*, J. Biol. Chem. 1928, **76**, 499. — 11. *Hlavaty*, Compt. rend. Soc. Biol. 1929, **100**, 587. — 12. *Hunt*, Ohio Agric. Exp. Sta. Bull. 1927, **415**, 3. — 13. *Hurni*, Schweiz. Nat. Ges. 1943, 119. — 14. *Kelly, Dietrich & Porter*, Food. Res. 1940, **5**, 253. — 15. *Kocher*, Diss. Bern, 1942. — 16. *Kucera*, Publ. Biol. Ecole des Hautes Etudes Vétérin. Brno, 1928, **5**, 167. — 17. *Kucera*, Compt. rend. Soc. Biol. 1928, **99**, 967. — 18. *Kucera*, idem. 1928, **99**, 971. — 19. *Kucera*, idem. 1929, **100**, 429. — 20. *Kucera*, Zschr. Tierzucht u. Züchtungsbiol. 1929, **13**, 387. — 21. *McCarrison*, Brit. Med. J. 1924, **1**, 567. — 22. *McCarrison*, Ind. J. Med. Res. 1926, **14**, 351. — 23. *Minnum*, Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 1941, **38**, 475. — 24. *Mirimanoff, Schmotkin, Schüpbach & Moudon*, Helv. Pharm. Acta 1944, **19**, 83. — 25. *Neipp*, Helv. Pharm. Acta 1943, **8/9**, 510. — 26. *Robbins & Kavanagh*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1942, **28**, 65. — 27. *Rowland*, Nature, London 1929, **124**, 760. — 28. *Rowland & Wilkinson*, Biochem. J. 1936, **24**, 199. — 29. *Rytz jun.*, Diss. Bern, 1939. — 30. *Scheunert & Schieblich*, Biedermann Zbl. f. Agrikulturchem. 1936, **8**, 120. — 31. *Scheunert & Schieblich*, Biedermann Zbl. f. Agrikulturchem. 1936, **8**, 125. — 32. *Scheunert & Schieblich*, Ernährung d. Pflanze 1936, **32**, 288. — 33. *Scheunert & Wagner*, Biochem. Zschr. 1939, **303**, 200. — 34. *Scheunert & Wagner*, Vitamin und Hormone 1941, **1**, 1. — 35. *Schopfer*, Z. Vitaminf. 1934, **4**, 67. — 36. *Schopfer*, Archiv f. Mikrobiol. 1935, **6**, 510. — 37. *Schopfer & Jung*, C. R. Phys. Hist. nat. Genève 1936, **33**, 22. — 38. *Schopfer & Jung*, C. R. congrès intern. techn. et chim. industr. agric. Scheveningue, 1937. — 39. *Schopfer*, Protoplasma 1937, **28**, No. 3. — 40. *Schopfer*, Vitamine und Hormone 1941, **1**, 463. — 41. *Schopfer*, C. R. Phys. Hist. nat. Genève 1941. — 42. *Schopfer*, Plants and vitamins. Waltham, Mass. USA. 1943. — 43. *Schultz*, Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 1940, **265**, 113. — 44. *Sun*, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. 1933, **170**, 443. — 45. *Swartz*, Bot. Gaz. 1941, **103**, 366. — 46. *Thren*, Vitamine und Hormone 1941, **1**, 100. — 47. *Zima, Ritsert & Moll*, Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 1941, **267**, 210.

Lebenslauf

Ich wurde am 23. Juli 1919 in Bern geboren, wo ich auch die städtischen Schulen (Primarschule, Progymnasium, Gymnasium) besuchte. Nach bestandener Real-Maturitätsprüfung immatrikulierte ich mich im Herbst 1938 an der philosophischen Fakultät II der Universität Bern und bestand am 28. Juni 1944 die Doktorprüfung in den Fächern Botanik, Chemie und Bakteriologie.

Seit dem Sommersemester 1941 bin ich Assistent am botanischen Institut und Garten der Universität Bern.